7693A 前処理機能を用いた トランス脂肪酸の自動分析

＜要旨＞　7693 A オートサンプラの前処理機能を用いて、市販されているオリーブ油、コーン油、ごま油、サラダ油の 4 種について誘導体化を含めたトランス脂肪酸の自動分析を検討しました。すべてのサンプルにおいて自動分析の結果は実験器具を用いたマニュアル前処理と同様な結果が得られ、その繰り返し再現性も良好でした。また、HP-88 カラムを用いることによりトランスとシス体の分離･定量も可能でした。

Key Words: トランス脂肪酸、7693 A、前処理自動化、HP-88

＊＊＊＊＊＊＊

1. はじめに

トランス脂肪酸を大量に摂取すると動脈硬化等による心臓疾患のリスクを高めると報告があり、米国等では食品中のトランス体の含有量の表示が義務づけられています。これを受け、日本でもトランス脂肪酸の栄養表示に向けた取り組みが進められています。[1]

トランス脂肪酸の分析には誘導体化の前処理が必要となります。Agilent 7693A オートサンプラは希釈、内標添加、加熱、撹拌といった前処理を自動で行うことができ、さらに、前処理と測定を同時に行うことができます(オーバーラップ機能)。そこで、本アプリケーションノートでは 7693A を用いた誘導体化を含めたトランス脂肪酸の自動分析を検討しました。

分析カラムには脂肪酸メチルエステル(FAME)の分離に優れた HP-88 を用いました。アジレントではこのカラムによる FAME の保持時間をデータベース化しており、アメリカ、EU をはじめ海外で広く利用されています。

2.測定条件および分析試料

装置: Agilent 7693A /7890 A / FID
カラム: HP88 100m,0.25mm,0.20µm
　　(部品番号 112-88A7)
注入量: 1µL
注入法: スプリット 50:1
注入口温度: 225℃
オーブン: 100℃(4min) -3℃/min-240℃(10min)
キャリアガス: ヘリウム、線速度 18 cm/s
検出器:　温度 250℃、取り込み周期　10Hz
メークアップ流量（窒素）: 20mL/min

分析試料：市販のオリーブ油、コーン油、ごま油、
　　サラダ油の 4 種

3.前処理プログラムの内容

前処理プログラムを Fig.1 に示しました。誘導体化試薬には脂肪酸メチル化キット(ナカライテスク社製、製品番号 06482-04)を用いました。

油脂試料を 2mg 程度秤量したバイアル、キットの試薬(メチル化試薬 A、B、C および抽出試薬)を入れたバイアルを Agilent 7693 A の 150 サンプルトレイに並べ、その後の添加、加熱、撹拌は自動で処理を行います。このプログラムは約 40 分程度で行うことができ、これは測定時間より短いため 2 回目以降の前処理時間は無視することができます。

本アプリケーションノートでは自動前処理と実験器具を用いてのマニュアル操作とを比較検討しました。

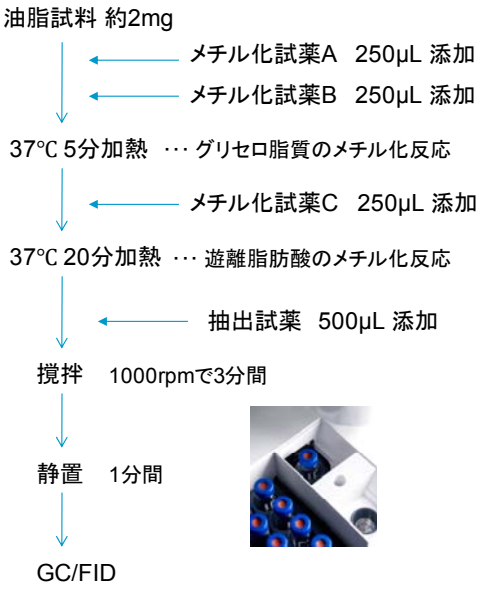

Fig.1　前処理プログラムのフローチャート

3.結果および考察

3.1 標準物質の分析

Fig.2 にスペルコ 37 種 FAME ミックス(SIGMA-ALDRICH 社製、カタログ番号 47885-U)を測定したクロマトグラムを示します。C20:3n3、C22:1、C20:4 ピーク(Fig.2 における＊の位置)以外の C4~24 脂肪酸を分離できました。

3.2 マニュアル操作と自動前処理の比較

分析試料 4 種において、実験器具を用いたマニュアル前処理と自動前処理の測定結果を比較しました。Fig.3 にオリーブ油におけるマニュアル前処理と自動前処理で得られたクロマトグラムを示しました。全 4 種において両者で同じ結果が得られました。

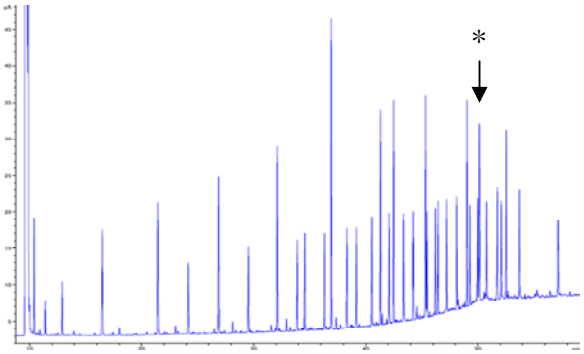

Fig.2 スペルコ 37 種 FAME ミックスのクロマトグラム

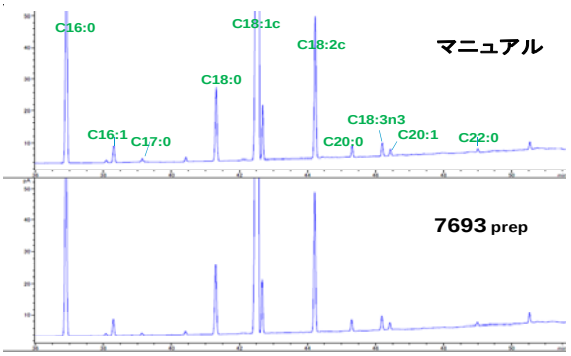

Fig.3 オリーブ油におけるマニュアルと自動前処理のクロマトグラム

3.3 トランス脂肪酸の分離

分析試料 4 種におけるトランス脂肪酸が検出された部分の拡大クロマトグラムを Fig.4 に示しました。HP-88 カラムで C18:1、C18:2、C18:3 の脂肪酸において、トランスとシス体の分離ができました。

3.4 繰り返し分析再現性

オリーブ油について前処理を含めた繰り返し分析(n=5)を行い、主要ピークについて保持時間および脂肪酸組成割合の RSD%を求めました。その結果、保持時間については 0.0057%、脂肪酸組成割合については多くが、1~2%以内、含有量の少ないものでも 5%程度と良好な結果が得られました。(Table1)

Tbale1 オリーブ油における繰り返し分析の脂肪酸含有量(n=5)

	C16:0	C16:1	C17:0	C18:0	C18:1c	C18:2c	C20:0	C18:3n3	C20:1	C22:0
1	11.29	0.73	0.097	3.34	74.19	6.17	0.46	0.57	0.26	0.13
2	11.29	0.76	0.097	3.27	74.16	6.33	0.44	0.60	0.25	0.11
3	11.31	0.72	0.098	3.34	74.20	6.17	0.46	0.58	0.27	0.12
4	11.41	0.74	0.098	3.33	74.14	6.18	0.44	0.58	0.27	0.12
5	11.28	0.73	0.097	3.33	74.15	6.18	0.46	0.58	0.27	0.12
平均	11.32	0.73	0.097	3.32	74.17	6.21	0.45	0.58	0.26	0.12
標準偏差	0.054	0.013	0.00058	0.028	0.026	0.070	0.0085	0.012	0.0061	0.0066
RSD%	0.47	1.7	0.60	0.85	0.034	1.1	1.9	2.1	2.3	5.5

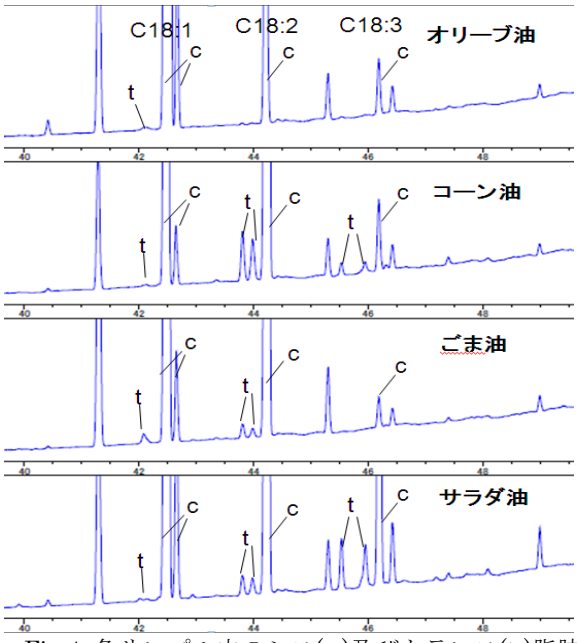

Fig.4 各サンプル中のシス(c-)及びトランス(t-)脂肪酸の分離例

4.結論

Agilent 7693 A オートサンプラを用いて誘導体化の前処理を含めたグリセリド中のトランス脂肪酸の自動分析が再現性良く実施できました。

また、前処理と測定を同時に行えるため、本アプリケーションの測定条件を使用する場合、2 つ目以降の前処理時間は無視することができ、測定時間の短縮化が可能でした。

5.参考文献

[1]http://www.caa.go.jp/foods/pdf/syokuhin292.pdf

【GCMS-201011TW-002】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
www.agilent.com/chem/jp

Agilent Technologies